

University of Groningen

Testosterone a female hormone

de Jong, Berber

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2013

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

de Jong, B. (2013). *Testosterone a female hormone: Testing the function and evolution of testosterone in female birds*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Inleiding

Bij veel diersoorten verschillen mannelijke en vrouwelijke individuen substantieel van elkaar in morfologie, fysiologie en gedrag. De biologische term hiervoor is seksuele dimorfie. Denk hierbij aan het verenkleed bij pauwen, de spiermassa bij mensen en het baltsgedrag van zangvogels. Verschillen in morfologie, fysiologie en gedrag tussen de geslachten zijn het gevolg van genetische en fysiologische mechanismen, zoals de aanwezigheid van geslachtschromosomen en -hormonen. Hormonen zijn signaalstoffen die afgegeven worden aan het bloed. Zij spelen een belangrijke rol bij het reguleren van morfologie, fysiologie en gedragingen van een individu.

Steroïde hormonen zijn van grote betekenis voor de regulatie van seksuele dimorfie. Het steroïde hormoon testosteron (T) speelt een belangrijke rol bij verschillende reproductieve gedragingen van mannetjes. In veel seizoenaal broedende zangvogels nemen de plasma T-waarden aan het begin van het broedseizoen toe. Deze toename valt samen met de periode waarin er veel territoriale agressie en paringen plaatsvinden. Na een experimentele verhoging van testosteron laten mannetjes een toename zien in territoriale agressie en paringsgedrag. Dit kan positieve gevolgen hebben voor territorium grootte en broedsucces. Maar een verhoging van T kan ook negatieve gevolgen hebben, zoals de afname van ouderzorg en overleving. Na de piek in T-waarden aan het begin van het broedseizoen nemen de T-waarden dan ook langzaam af zodra de periode met ouderzorg begint. De T-waarden blijven daarna laag tot aan het begin van het volgende broedseizoen. Vrouwtjes van verschillende diersoorten laten dezelfde seizoenale variatie zien in T-waarden als mannetjes. Deze T-waarden zijn echter lager dan bij mannetjes. In tegenstelling tot de mannelijke situatie, is er tot dusver weinig bekend over de functionele rol van T bij vrouwtjes.

Hypothese 1. T in vrouwtjes is bijproduct door selectie bij mannetjes (T bij vrouwtjes non-adaptief)

Interseksuele genetische correlatie zou één van de verklaringen zijn voor de huidige T-waarden en seizoenale variatie in T-waarden in vrouwelijke individuen. Het genoom van mannetjes en vrouwtjes is vrijwel gelijk. Deze interseksuele genetische correlatie zorgt ervoor dat natuurlijke of seksuele selectie voor een bepaald kenmerk in het ene geslacht, vaak een gecorreleerde respons oplevert in dezelfde richting in het andere geslacht. Dus wanneer selectie in het ene geslacht een kenmerk bevoordeelt dat nadelig is voor het andere geslacht, dan kan dit de evolutie van dit kenmerk afremmen in beide geslachten. Deze tegengestelde selectiedruk wordt antagonistische seksuele selectie genoemd. Uiteindelijk kan seksuele genetische correlatie ertoe leiden dat mannen en vrouwen méér gelijkaardig in fenotype worden dan 'optimaal' zou zijn voor elk geslacht afzonderlijk. Deze antagonistische seksuele selectie kan er ook toe leiden dat T-waarden in vrouwen mogelijk niet adaptief - of zelfs schadelijk – zijn, wat de verdere toename van T in mannen en een afname van T in vrouwen kan beperken.

Hypothese 2. T in vrouwtjes is selectief neutraal (er vindt geen selectie plaats op T)

De evolutie van hetzelfde kenmerk in beide geslachten hoeft niet altijd beperkt te worden door het voorkomen van dezelfde genen bij mannen en vrouwen. Wanneer het niveau van een

kenmerk geen invloed heeft op de fitness van het individu dan wordt dit kenmerk selectief neutraal genoemd. Een kenmerk kan in het ene geslacht evolueren naar een optimum, als bij het andere geslacht geen sprake is van selectie op ditzelfde kenmerk. Indien T-waarden in vrouwen een selectief neutraal kenmerk zijn, zal de hoogte van de waarden niet van invloed zijn op de fitness van vrouwen. De verdere evolutie van T in mannen is daarmee onafhankelijk van de expressie bij vrouwen.

Hypothese 3. T in vrouwtjes is een *adaptief* kenmerk. Er vindt effectieve selectie op plaats.

Tot slot zouden de huidige T-waarden bij vrouwen verklaard kunnen worden door aan te nemen dat zij zijn aangepast aan de ecologie van de vrouw. Ergo, er zijn voordelen verbonden aan de productie van T als vrouw. Bijvoorbeeld, een toename van T aan het begin van het broedseizoen zou nodig zijn voor vrouwtjes om hun territoriale agressie te reguleren, net als bij mannetjes. Echter, om allerlei redenen zou het kunnen dat de optimale hoogte van T waarden verschilt tussen geslachten. Bij grote verschillen in T-optima kan antagonistische seksuele selectie een nivellerende werking hebben in de expressie. Dat kan in het volgende scenario. Als een kenmerk constant onder antagonistische seksuele selectiedruk staat, dan zal uiteindelijk natuurlijke en/of seksuele selectie die fenotypen bevoordelen die een minder sterke genetische correlatie tussen de sexen voor dat kenmerk vertonen. Dit komt omdat deze fenotypen niet beperkt worden in het tot uiting brengen van de optimale waarde voor een kenmerk door het andere geslacht. Hierdoor hebben deze fenotypen een hogere kans om te overleven en hun genen (via hun nakomelingen) door te geven aan de volgende generatie. Kortom, T zal onafhankelijk in mannen en vrouwen naar een optimale waarde kunnen evolueren wanneer de evolutie van T in beide geslachten niet beperkt wordt door genetische correlatie.

De functionele rol van een hormoon kan getest worden met behulp van het manipuleren van hormoonspiegels. Men kan onderzoeken of huidige T-waarden in evolutionaire zin optimaal zijn voor vrouwtjes. Hiertoe kunnen T-waarden experimenteel verhoogd worden met behulp van met T gevulde implantaten onderhuids aan te brengen. Dit doet men in één groep vrouwtjes, om vervolgens de fitness van deze groep te vergelijken met de fitness van een niet gemanipuleerde controlegroep kan. Fitness kan gemeten worden als bijvoorbeeld: het aantal nakomelingen dat een vrouwtje produceert en haar overleving. Tot nu toe heeft een aantal studies al aangetoond dat experimenteel verhoogde T bij vrouwtjes effect heeft op verschillende reproductieve parameters, zoals toename van agressie en afname van legselgroottes en aantal uitgevlogen jongen. Uit dergelijke studies wordt vaak geconcludeerd dat de huidige T-waarden in vrouwtjes het gevolg zijn van antagonistische seksuele selectie. Er zijn echter enkele methodologische bezwaren bij dergelijke studies. Ten eerste wordt het testosteron vaak over een langere periode verhoogd dan in de natuurlijke situatie. De implantaten worden namelijk niet verwijderd wanneer gestart wordt met broedzorg. Als er dan een effect van T op bijvoorbeeld het gedrag van vrouwtjes wordt gevonden later in het broedseizoen, zegt dit alleen iets over de tijdsperiode waarin vrouwtjes gevoelig zijn voor T. De verkregen resultaten verschaffen derhalve geen inzicht in de functionele rol van T bij het begin van het broedseizoen. Verder liggen de experimenteel verhoogde T-waarden vaak buiten het fysiologische bereik van de soort. Dit laat weliswaar toe te concluderen dat T-waarden tot het niveau van mannetjes niet adaptief zijn voor vrouwtjes, maar dergelijke studies geven geen uitsluitsel over de vraag of de huidige (d.w.z. veel lagere) T-waarden in vrouwtjes adaptief zijn. Daarnaast werd nog geen studie verricht die zowel verhoogde als verlaagde T-concentraties bij vrouwtjes in een natuurlijke populatie beschouwde. Dit is nodig

om te testen of huidige T-waarde het gevolg zijn van antagonistische seksuele selectie. Namelijk, uitgaande van deze hypothese is de verwachting dat vrouwtjes met verhoogde T-waarden een lagere fitness moeten hebben dan de controlevrouwtjes. Maar daarnaast zou je ook verwachten dat vrouwtjes met verlaagde T-waarden een hogere fitness zouden moeten hebben dan controlevrouwtjes. Dit laatste verwacht je omdat deze vrouwtjes niet het optimale niveau voor hun T-waarden kunnen bereiken door antagonistische seksuele selectie die veel hogere waarden in de mannetjes selecteert.

Doel en methoden

Om na te gaan wat de functionele rol is van T op het gedrag van vrouwtjes pimpelmezen (*Cyanistes caeruleus*), verhoogde ik daarom T-waarden binnen het fysiologische bereik van individuen in een natuurlijke populatie. Hierbij werd gebruik gemaakt van implantaten gevuld met T. In een andere groep verlaagde ik de effectiviteit van T door middel van implantaten gevuld met een androgeen receptor blokker (flutamide, Flu). Vervolgens vergeleek ik verschillende gedragingen, reproductieve succes en overleving van deze twee groepen met elkaar en met een controlegroep (C). Deze laatste had alleen lege implantaten had gekregen. Het reproductieve succes werd gemeten als het aantal uitgekomen eieren en uitgevlogen kuikens. De manipulatie vond plaats aan het begin van het broedseizoen. In deze periode neemt de natuurlijke productie van T in vrouwtjes toe. Ze beginnen met nestbouw en verdedigen hun territoria. Direct na de start van de eileg, wanneer natuurlijk T-waarden dalen naar basale waarden, werden de implantaten verwijderd. Mijn predictie was dat Flu-vrouwtjes een hogere fitness hebben dan T- of C-vrouwtjes indien de huidige T-waarden het gevolg zijn van antagonistische seksuele selectie. Als C-vrouwtjes een hogere fitness hebben dan T-vrouwtjes en Flu-vrouwtjes, dan zijn de huidige T-waarden adaptief voor vrouwen. En als er geen verschil in fitness is tussen de experimentele groepen, dan is de selectie voor T-waarden neutraal in vrouwen.

Naast onderzoek naar de functionele rol van de piek in T-waarden onderzocht ik tevens in welke mate het seizoenale patroon van T-waarden adaptief is in vrouwtjes. Hiervoor heb ik de T-waarden experimenteel verhoogd door middel van implantaten in vrouwelijke koolmezen (*Parus major*) gedurende een langere periode dan dat van nature het geval is. Door deze aanpak kon ik onderzoeken of vrouwtjes nog steeds gevoelig waren voor verhoogde T-waarden na verlaging van hun natuurlijke T-waarden en wat de kosten en baten zijn van het al dan niet gevoelig blijven voor T. Ik voorspelde daarbij dat als vrouwtjes gevoelig bleven voor T en dit kosten met zich meebracht, dat dan het huidige seizoenale patroon van T adaptief is voor vrouwen.

Belangrijkste bevindingen

In **hoofdstuk 2** heb ik de effecten van verhoogde T en Flu onderzocht op onder andere nestbouwactiviteit, start van de eileg, territoriaal gedrag en reproductief succes van pimpelmeesvrouwtjes. De experimenteel verhoogde T-waarden hadden een sterk effect op de nestbouw. Nadat het nestmateriaal was verwijderd, direct na implantatie, begonnen de T-vrouwtjes gemiddeld twee dagen eerder met het herbouwen van hun nest vergeleken met C-vrouwtjes. Daarnaast waren de T-vrouwtjes eerder klaar met het bouwen van hun nest vergeleken met de andere twee groepen. Flu had geen significant effect op de nestbouwactiviteit van de vrouwtjes. De start van de eileg verschilde niet significant tussen de experimentele groepen. Naast de effecten op nestbouw hadden de experimenteel verhoogde T-waarden invloed op het territoriale gedrag. T-vrouwtjes waren agressiever tegenover een opgezet pimpelmeesvrouwtje dan de vrouwtjes van de andere experimentele groepen. Na het verwijderen van de implantaten

werden geen verschillen gevonden tussen de experimentele groepen voor legselgrootte, fractie uitgekomen eieren, nestmortaliteit en aantal uitgevlogen kuikens. Er werd bijgevolg geen effect van Flu of T op het reproductieve succes van de vrouwtjes gemeten. Aan de hand van mijn resultaten uit dit experiment concludeer ik dat het onwaarschijnlijk is dat de huidige T-waarden bij vrouwtjes het gevolg zijn van antagonistische seksuele selectie. Omdat ik ook geen negatieve effecten vond in de verhoogde T-groep en de gedragseffecten van de verhoogde T-waarden als positief geïnterpreteerd kunnen worden, lijkt het mij waarschijnlijker dat T-waarden in vrouwtjes eerder adaptief zijn. De resultaten van mijn studie staan in schril contrast met deze uit eerdere studies. Mogelijk oorzaak hiervan zijn de hierin toegepaste onnatuurlijk hogere waarden van T, bovendien over een onnatuurlijke tijdsinterval.

In **hoofdstuk 3** onderzocht ik de rol van T op het paringsgedrag van vrouwelijke pimpelmezen. Door van alle kuikens en hun ouders bloed af te nemen en daar het DNA van te analyseren kon ik precies achterhalen welk kuiken afkomstig was van een buitenechtelijke copulatie (d.w.z. met een andere man dan de sociale partner). Hierdoor kon ik het aantal buitenechtelijke kuikens over meerdere jaren meten, namelijk in het jaar dat de hormoonwaarden van de moeders waren gemanipuleerd en het jaar daarop. In de T-groep werden minder nesten gevonden met ten minste één buitenechtelijk jong dan in de Flu- en C-groepen, die bovendien onderling niet met elkaar verschilden. In het jaar volgend op de manipulatie was er geen verschil meer tussen de drie experimentele groepen. Deze resultaten wijzen erop dat experimenteel verhoogde T-waarden leiden tot een verlaging van het aantal buitenechtelijke jongen bij vrouwen. Hoe T het paringsgedrag van vrouwtjes pimpelmezen beïnvloedt, is niet geheel duidelijk. Een verklaring zou kunnen zijn dat de T-vrouwtjes minder aantrekkelijk worden gevonden. Deze verklaring heb ik onderzocht in een pilote experiment, waarbij mannetjes pimpelmezen konden kiezen tussen T- en Flu-vrouwtjes. Ik vond geen verschil in voorkeur van de mannetjes voor vrouwtjes tussen de experimentele groepen. Deze resultaten wijzen erop dat het lager aantal nesten met buitenechtelijke kuikens in de T-groep mogelijk niet verklaard kan worden door een verschil in aantrekkelijkheid tussen de experimentele groepen. Een alternatieve verklaring zou kunnen zijn dat de vrouwtjes met experimenteel verhoogde T-waarden meer tijd investeerden met het weghouden van andere vrouwtjes in hun territorium en minder met het zoeken van buitenechtelijke paringen. Deze alternatieve verklaring lijkt plausibel aangezien ik in de voorgaande studie (**hoofdstuk 2**) heb aangetoond dat T agressie verhoogt bij pimpelmees vrouwtjes.

In **hoofdstuk 4** heb ik onderzocht of een verhoging of een verlaging van T effecten had op het reproductieve succes en overleving van pimpelmeesvrouwen gedurende twee broedseizoenen. Ten eerst bleek dat zowel een verhoging van T-waarden als het blokkeren van T aan het begin van het broedseizoen geen effect had op het reproductieve succes van de vrouwtjes in beide jaren. Ten tweede had geen van de manipulaties een effect op de overleving van de vrouwtjes. Uit dit onderzoek blijkt dat het experimenteel verhogen van T-waarden aan het begin van het broedseizoen niet leidt tot de verlaging van fitness, maar dat het verlagen van de effectiviteit van T ook niet leidt tot een verhoging van de fitness van vrouwtjes, consistent met de resultaten uit hoofdstuk 2.

In **hoofdstuk 5** werd onderzocht of het seizoenale patroon van T-waarden adaptief is in vrouwtjes, met name of de afname van T tijdens de broedzorg functioneel is. Om dit te testen heb ik de T-waarden van vrouwtjes koolmezen voor een langere periode dan natuurlijk voorkomt

gemanipuleerd: van vlak voor de start van eileg tot het einde van het broedseizoen. Vervolgens heb ik gekeken naar de effecten van de hormoonmanipulatie op broedgedrag en reproductief succes. T had sterke negatieve effecten op de incubatietemperatuur van de vrouwtjes. De gemiddelde dag- en nachttemperatuur in de nesten van de T-vrouwtjes was drie graden lager dan in nesten van C-vrouwtjes. Deze lagere temperaturen hadden ook effect op het uitkomstsucces van de eieren van de T-vrouwtjes. Dit succes lag lager bij de eieren van T-vrouwtjes. Ook het aantal jongen dat uitvloog was lager in deze groep. Deze resultaten wijzen er op dat koolmeesvrouwtjes gevoelig blijven voor verhoogde T-waarden later in het broedseizoen, wanneer natuurlijke T-waarden al weer gedaald zijn naar hun basale waarde. De negatieve effecten van de blijvende gevoeligheid voor T laten zien dat het mogelijk adaptief is voor vrouwtjes om alleen maar een piek in T-waarden te hebben aan het begin van hun broedseizoen. Deze resultaten tonen een tegengesteld patroon dan dat van de mannetjes koolmezen. Deze bleken ongevoelig voor T later in het broedseizoen. Verschillen tussen geslachten in gevoeligheid voor T later in het broedseizoen kunnen erop wijzen dat dit kenmerk geëvolueerd is via geslachtsspecifieke processen.

Slotbeschouwing

Tijdens mijn onderzoek werd aangetoond dat een kortdurende verhoging van T binnen de fysiologische range effect heeft op agressie, nestbouw en paringsgedrag in vrouwtjes pimpelmezen. Er werd echter geen effect van T gevonden op reproductief succes of overleving. Daarnaast bleek dat een experimentele verlaging van de effectiviteit van T door middel van Flu, geen meetbare gevolgen had op de bestudeerde kenmerken, gedragingen, en fitnesscomponenten. Wanneer T op een natuurlijkere manier wordt gemanipuleerd, blijkt dit bijgevolg niet tot een meetbare verlaging in fitness te leiden. Daar tegenover staat dat het verlagen van de effectiviteit van T ook niet leidt tot een verhoging in fitness. In tegenstelling tot deze resultaten, heb ik in een andere experiment gevonden dat wanneer T voor een langere periode werd verhoogd buiten het fysiologische bereik van koolmeesvrouwtjes, T reproductief succes drastisch verlaagde. Op basis van deze gecombineerde resultaten concludeer ik dat de huidige T-waarden en seizoenale variatie in T hoogstwaarschijnlijk niet het gevolg zijn van seksuele antagonistische selectie. Aan de andere kant heb ik ook geen bewijs gevonden dat T-waarden in vrouwtjes op dit moment adaptief zijn. Al vond ik wel directe positieve effecten van T (positieve effecten op nestbouwactiviteit en agressie), dit heeft niet geleid tot blijvende voordelen (geen verhoging van het reproductieve succes en overleving) voor vrouwtjes. Dat laatste resultaat is echter mogelijk niet helemaal betrouwbaar aangezien voor het verkrijgen van significante effecten op fitness veelal veel grotere steekproeven nodig zijn. Daarom zou ik voorzichtig willen concluderen dat de huidige T-waarden in vrouwtjes pimpelmezen tijdens het paringsseizoen adaptief zijn of selectief neutraal.